Die Schutzwirkung des Cystein auf die Überlebensrate röntgenbestrahlter Rinderspermien

von

WALTER MEYERHOFF

1961

Aus der Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf

Direktor Prof.Dr.med. G. Schubert

"Die Schutzwirkung des Cystein auf die Überlebensrate röntgenbestrahlter Rinderspermien"

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Walter Meyerhoff

aus Hamburg

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 28.8.1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. R. Prévôt
Referent: Priv. Doz. Dr. Künkel
Korreferent: Prof. Dr. Schubert

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1 Einleitung

2 Material

4 Methode

6 Vorbereitende Versuche

9 Ergebnisse

15 Statistische Beurteilung und Sicherung der in Abb. 1 graphisch dargestellten Versuchsreihen

19 Diskussion

A) Eigenschaften der unbestrahlten Samenzellen

23 B) Bestrahlung der isolierten Keimzelle

24 C) Bestrahlung des samenbildenden Hodengewebes

25 D) Bestrahlung des isolierten Sperma

27 E) Die Strahlenschutzwirkung SH-haltiger Substanzen

29 Zusammenfassung

30 Literaturverzeichnis

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0039

"DIE SCHUTZWIRKUNG DES CYSTEINS AUF DIE ÜBERLEBENSRATE RÖNTGENBESTRAHLTER RINDERSPERMIEN!"

In der vorliegenden Arbeit werden Versuche beschrieben, bei denen die Wirkung von Röntgenstrahlen auf Rinderspermien sowie die Schutzwirkung des Cystein auf den Strahleneffekt geprüft wurde. Hierbei wurde die Anzahl der beweglichen und toten Spermatozoen mikroskopisch ausgewertet, unter Berücksichtigung schädigender oder nicht schädigender Faktoren, der Temperatur, des pH-Wertes, des Elektrolytgehaltes, des osmotischen Druckes, des Keimgehaltes der keimhemmenden Zusätze und der Verdünnung.

Anlaß zu dieser Arbeit gaben die vielen Untersuchungen, die in letzter Zeit mit Cystein, Cysteamin und verwandten SH-haltigen Substanzen als Strahlenschutzstoffe gegen die Wirkung ionisierender Strahlen angewandt wurden. Es wurden an verschiedenartigsten Versuchsobjekten wie zum Beispiel an Insekten, Säugetieren und Einzelzellen, sowohl in vitro als auch in vivo Beobachtungen angestellt. Bis vor kurzer Zeit konnte eine Strahlenschutzwirkung der eben genannten chemischen Substanzen nur dann festgestellt werden, wenn sie kurz vor der Bestrahlung appliziert wurden. Neuerdings wurden auch Versuche durchgeführt, bei denen der Strahlenschutzstoff nach der Bestrahlung verabfolgt wurde. P a t t (18) zum Beispiel erzielte bei Thymocyten, zu denen er unmittelbar nach der Bestrahlung Cystein hinzusetzte, einen Strahlenschutzeffekt, der zwar kleiner war als bei Gabe von Cystein vor der Bestrahlung. K ü n k e l , H ö h n e und M a a s s (19) hatten bei Siebenschläfern einen überzeugenden Schutzeffekt bei Cysteingaben nach der Bestrahlung. Sie bestrahlten im Winterschlaf und applizierten den Schutzstoff kurz vor dem Aufwecken der Tiere. K r a h e , K ü n k e l und S c h m e r m u n d (20) machten ähnliche Versuche an

Pferdebohnen (vicia faba), die im trockenem Zustand bestrahlt wurden, um dann später in einem Gemisch von Cystein und v. d. Cronenschen Nährlösung gequollen und zum Keimen gebracht zu werden. Die Mitosen und die Primärwurzellängen, die ausgewertet wurden, zeigten fast die gleichen Zahlenwerte wie bei den unbestrahlten Kontrollen, während die nur bestrahlten Bohnen ganz entscheidende Schädigungen in Bezug auf Mitose und Wurzellänge aufwiesen.

Bei den hier beschriebenen Versuchen wurde das Rindersperma ähnlichen Versuchsbedingungen wie bei den zuletzt genannten Arbeiten unterworfen. Es wurde bei einer Temperatur von 4° C bestrahlt. Bei dieser Temperatur zeigen die Spermien keinerlei Bewegung, so daß der Stoffwechsel stark herabgesetzt ist. (Es liegen also analoge Verhältnisse vor wie bei den hibernisierten Siebenschläfern oder bei den trockenen Bohnen.) Cystein wurde erst dann hinzugesetzt, nachdem das Sperma auf eine Temperatur von 15° C gebracht worden war. Bevor auf die Untersuchungsmethode und auf die vorbereitenden und Hauptversuche eingegangen wird, soll zunächst das Material als solches besprochen werden.

M a t e r i a l

Als Versuchsobjekt wurde Rindersperma benutzt, das vom Staatsgut Hamburg-Farmsen für die Untersuchungen freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurde. Dieses Rindersperma bot den Vorteil, daß man ein sehr sauberes und bei der Gewinnung sehr sorgfältig behandeltes Material bekam. Denn schon seit etwa 30 Jahren beschäftigt man sich in der Veterinärmedizin mit der Gewinnung eines für die künstliche Befruchtung keimfreien Samens, der einen möglichst hohen Befruchtungshundertsatz aufweist und in dem die Samenzellen eine gute Beweglichkeit zeigen. Man hatte also für die Untersuchung Ejakulate zur Verfü-

gung, in denen sich ein hoher Prozentsatz (80 - 85 %) lebender Spermatozoen befand.

Das Rindersperma ist ein spermienreiches, verhältnismäßig kleines Ejakulat von etwa 5 bis 8 ccm, das eine rahmähnliche träge tropfbare Konsistenz aufweist und etwa elfenbeinfarbig ist. Die Gesamtzahl der Spermatozoen in einem Ejakulat durchschnittlicher Größe liegt ungefähr zwischen 1,5 bis 6 Milliarden, also ganz erheblich höher als beim menschlichen Sperma. Die Größe einer Spermatozoe beim Rind beträgt etwa 65 - 70 µ, beim Menschen 51 - 60 µ. Die Größe einer menschlichen Samenzelle liegt also nicht viel unter der vom Rind (Götze (21)). Die Form des Rindersamens entspricht ungefähr der des Menschen, nur sind die Köpfe der Rinderspermatozoen mehr flach, löffel- oder spatenartig, während sie beim Menschen mehr kegelförmig und stumpf zugespitzt sind. C.J. R e e d und R.P. R e e d (12) stellten fest, daß der Kopfteil des Stierspermiums eine protoplasmatische Hülle besitzt (galea), die bei einer menschlichen Samenzelle fehlt. Jedoch ist das nicht mit Protoplasma bedeckte Ende des Schwanzteiles beim Menschen verhältnismäßig länger als beim Rindersperma.

Das Rindersperma zeigt gleich nach der Gewinnung in unverdünntem Zustand bei Körpertemperatur im Mikroskop beobachtet, große Bewegungsgeschwindigkeiten, die als Massen- oder Schwarmbewegungen (fischzugähnliche Bewegungen) bezeichnet werden. Diese in gleicher Richtung vor sich gehenden wellenartigen Bewegungen kommen nach R e d e n s (23) durch die gleiche negative Ladung der Spermatozoen zustande. Diese Massenbewegung ist Ausdruck für eine sehr gute Funktionstüchtigkeit. Die Geschwindigkeit einer einzelnen Spermatozoe beträgt beim Rind etwa 6 - 7 mm pro Minute. Nach A d o l p h i (24) ist die Durchschnittsgeschwindigkeit für Rinderspermien 4,02 mm pro Minute. Wird das Rindersperma verdünnt, so gehen die Massenbewegungen verloren, aber auch äußere Einwirkungen, wie z.B. Kälte

(Herabsetzung des Stoffwechsels) weisen einen Verlust der Massen- und Vorwärtsbewegungen auf. Man beobachtet jetzt nur noch Ortsbewegungen. Jedoch können Vorwärts- und manchmal sogar Massenbewegungen durch Erwärmung oder durch Zusatz von Glukose wieder erzeugt werden.

In den vorliegenden Versuchen wurden mit Spermasol (von der Firma Mack) verdünnte Ejakulate verwendet. Spermasol enthält neben einem Grundpuffer von Natriumcitrat und Kaliumdihydrogenphosphat, der auf einen optimalen pH-Wert von 6,9 eingestellt ist, außerdem ein Gelatineabbauprodukt als Schutzkolloid und keimhemmende Zusätze wie Dihydrostreptomycin, Penicillin und Sulfonamide. Verdünnt wurde das Sperma im Verhältnis 1:5, das heißt: 1 Teil Sperma, 5 Teile Spermasol... Zu erwähnen bleibt noch, daß zu dem Spermasol frisches Eidotter hinzugesetzt wird, wie auch bei anderen Verdünnern, da dieses eine gute Schutzkolloidwirkung besitzt.

Methode

Das 1:5 mit Spermasol verdünnte Rindersperma wurde in sterilen Gläschen zu je 0,5 ccm abgefüllt, die mit einem gut abschließenden Gummipfropfen versehen wurden. Jedes Gläschen wurde dann der in den Vor- und Hauptversuchen vorgesehenen Versuchsanordnung unterworfen.

Die mikroskopische Auswertung gestaltete sich folgendermaßen: Das jeweils verschieden behandelte Sperma (mit oder ohne Cystein) wurde mit einer Erythrocytenpipette bis zur Marke 1,0 aufgezogen und dann mit Ringerlösung verdünnt. Da jedoch die Spermatozoen bei diesem Verdünnungsgrad im mikroskopischen Bild viel zu eng lagen und so ein genaues Auszählen der Samenzellen sehr schwierig war, wurde das Sperma nur noch bis zur Marke 0,5 aufgezogen und wiederum mit steriler Ringerlösung verdünnt. Diese Verdünnung im Verhältnis 1:200 ergab dann ein sehr übersichtliches und gut auszuzählendes Bild im Mikroskop.

Das Auszählen der toten beziehungsweise lebenden Spermien wurde in einer Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal mit einem Phasenkontrastmikroskop, auf dessen Vorteile bei der mikroskopischen Ejakulatsuntersuchung auch von F o s s e l (46) hingewiesen wird, vorgenommen. Die Kammer von Fuchs-Rosenthal wurde denen von Thoma und Türk vorgezogen, da bei dieser die Quadrate größer sind und dadurch das Auswerten der Spermatozoen erleichtert wird.

Es wurden zuerst 2 große Quadrate ausgezählt. Bei dieser Auswertungsmethode hatte man jedoch im zweiten großen Quadrat immer mehr tote Spermien als im ersten. Das kam dadurch zustande, daß die Spermien unter dem Mikroskop in der Zählkammer sehr schnell abstarben und zwar deshalb, weil die sterile Ringerlösung, mit der das Sperma im Verhältnis 1:200 verdünnt wurde, nicht bewegungserhaltend auf die Samenzellen wirkte (NaCl, Ringer- und Tyrodelösung beleben gleich zu Anfang die Aktivität, töten jedoch die Spermatozoen vorzeitig ab (G ö t z e (47)). Daraufhin wurde nur noch 1 großes Quadrat ausgewertet. Damit man jedoch ungefähr auf die gleiche Gesamtzahl wie vorher kam, wurde die Zählkammer gleich anschließend noch einmal frisch mit Sperma aufgefüllt, um nunmehr noch ein zweites großes Quadrat auszuzählen.

Ausgezählt wurden zuerst die toten Samenzellen. Um nur die tatsächlich toten Spermien zu erfassen und vielleicht nicht solche, die sich in einem Kälteschlaf oder einer Kälteträgheit befanden, mußten die Spermatozoen in der Zählkammer bei Körpertemperatur (also zwischen 37 und 40° C), bei der alle noch lebenden Zellen ein Maximum an Bewegung zeigen, zahlenmäßig erfaßt werden. Zuerst erreichte man diese Temperatur dadurch, daß man die Zählkammer 3-4 mal langsam durch eine offene Flamme zog und dann die Temperatur der erwärmten Kammer durch Auflegen auf den Handrücken prüfte. Da aber diese Methode zu ungenau erschien, wurde später zum Erlangen der Körpertemperatur eine Heizsonne verwandt, die dem Objekttisch

des Mikroskopes die richtige Temperatur verlieh, auf dem die zur Untersuchung benutzten Zählkammern entsprechend angewärmt wurden. So konnte die Gesamtzahl der toten Samenzellen, die bei Körpertemperatur keine Bewegung mehr aufwiesen, ausgewertet werden.

Um die Gesamtzahl der Spermien zu erfassen, wurde die Zählkammer so lange durch die Flamme gezogen, bis sich die lebenden kaum oder überhaupt nicht mehr bewegten. Jetzt konnte die Gesamtzahl der Spermien, die zwischen 70 und 150 schwankte, in einem großen Quadrat erfaßt werden. Aus diesen beiden Werten, den Toten und der Gesamtzahl, errechnete man den Prozentsatz der lebenden Spermien. Die beweglichen Samenzellen sofort im Mikroskop zahlenmäßig zu erfassen, war unmöglich, da diese zum Teil schnelle Vorwärtsbewegungen aufwiesen. -
Ein zu langes Erhitzen der Zählkammer beim Abtöten der lebenden Spermien bringt Ungenauigkeit, da durch einen Verlust an Flüssigkeit die Samenzellen sich enger zusammenlagern würden und so die tatsächliche Gesamtzahl viel zu groß wäre.

Um die Methode zur mikroskopischen Auswertung zu erhärten und zu sichern, wurde eine Versuchsgruppe unbestrahlter Samenzellen fünfmal hintereinander ausgezählt, nachdem jedesmal die Zählkammer neu gefüllt worden war. Dabei ergaben sich folgende Werte: 21 %, 18 %, 21 %, 22 %, 19 % tote Spermien.-
Die geringe Abweichung von $\pm$ 2 % zeigt, daß die Auswertung eine ziemlich große Genauigkeit aufweist.

Vorbereitende Versuche

In orientierenden Versuchen war es erforderlich, eine genaue Dosierung mit Cystein (es wurde Hormodyn forte von den Nordmarkwerken Hamburg verwandt) herauszufinden, die nicht von sich allein aus schon toxisch wirkte und die andererseits noch einen Schutzeffekt hervorruft. Um das Cystein auf einen pH von 6,8 zu bringen, der auch ungefähr dem des Sperma entspricht und bei dem das Sperma eine große Beweglichkeit zeigt, wurde zum Cystein ein Puffer hinzugefügt mit einem pH von 6,8,

und zwar nahm man KH_2PO_4 1/15 molar und $NaHPO_4$ 1/15 molar im Verhältnis 1:1.

Es wurde 1 ccm Sperma mit 4 ccm Puffer gemischt. Dies entspricht gleich 50 mg Cystein in 5 ccm Puffergemischlösung oder gleich 1 mg Cystein in 0,1 ccm Cysteinpuffergemischlösung. - Daraufhin wurde 0,1 ccm Cysteinpuffergemischlösung zu 0,5 ccm Sperma gegeben und erreichte somit, daß das Sperma 2,0 mg Cystein pro ccm enthielt; (bei der Ratte gab man circa 0,5 mg Cystein pro g Körpergewicht oder 500 mg pro 1000 g Körpergewicht).

Weiterhin war es erforderlich, die Strahlenempfindlichkeit des Rindersperma festzustellen. Es wurde bei 4° C mit 200, 300, 500, 2000, 3000, 10.000 und 20.000 r mit einer 200 KV-Röntgenanlage (20 mA, 0,2 mm Al, Dosisleistung 1060 r pro Minute) bestrahlt. Dann kontrollierte man in 12 stündigen Abständen die Strahlenschädigung an Hand der Veränderung des Verhältnisses lebende : tote Spermatozoen, nachdem die primär unbeweglichen Spermien von ca. 15 % in Abzug gebracht worden waren. Als Kontrolle wertete man in gleichen zeitlichen Intervallen einen unbestrahlten Anteil desselben Ejakulates, der in der Versuchsanordnung dem bestrahlten Anteil entsprach, aus. Erst bei einer Strahlendosis von 10.000 und 20.000 r ließ sich ein signifikanter Strahlenschaden nachweisen.

Aus der Tabelle 1 (Seite 8) ist ersichtlich, daß gleich nach der Bestrahlung bei 4° C auch durch hohe Dosierung keine Strahlenschädigung zu erreichen ist. Diese tritt erst nach 12 Stunden auf und wird mit der Zeit immer deutlicher. Auch nach 48 Stunden läßt sich bei den bis zu 3000 r bestrahlten Versuchsreihen keine Beeinflussung der Relation lebende/tote Spermien feststellen.

Erfolgt die Bestrahlung bei höheren Temperaturen z.B. bei 20° C mit 15.000 r, so steigt die Mortalität der Spermien nach 48

Tabelle I

Anteil unbeweglicher Spermien (in %) nach Röntgenbestrahlung bei + 4° C (nach Abzug der Spontanschädigungsrate der unbestrahlten Kontrollen zu Versuchsbeginn)

D o s i s	Nach Abzug der Spontan-schädigungsrate vor Bestrahlung	12 Stunden nach Bestrahlung	24 Stunden nach Bestrahlung	48 Stunden nach Bestrahlung
Unbestrahlte Kontrollen	0	3	3	8
200 r	0	4	3	7
300 r	0	3	4	8
500 r	0	3	3	6
2000 r	0	4	5	8
3000 r	0	4	5	8
10000 r	0	5	10	20
20000 r	0	8	15	29

Stunden auf 55 %. Man konnte auch bei dieser Versuchsanordnung bei der Auszählung gleich nach der Bestrahlung keine Schädigungen feststellen.

Durch diese Untersuchungen lassen sich die von G e r b e r (16) ermittelten Beziehungen zwischen Strahlendosis und Strahlensensibilität bestätigen, jedoch ließ sich unter diesen Versuchsbedingungen (Bestrahlung bei 4 bis 20° C) eine Strahlenläsion gleich nach erfolgter Bestrahlung nicht nachweisen.

Da sich wie oben erwähnt und es aus der Tabelle 1 ersichtlich wird, erst bei 10.000 und 20.000 r eine deutliche Strahlenschädigung nachweisen ließ, wurden für die Hauptversuche diese Strahlendosen verwandt.

E r g e b n i s s e

Der Strahlenschutzeffekt des Cystein: Bei den Untersuchungen ließ sich nachweisen, daß das Cystein auch dann noch wirksam wird, wenn es nach der Bestrahlung zum Zeitpunkt der Wiederaktivierung des Stoffwechsels appliziert wird. Dies wird deutlich bei der vergleichenden Betrachtung der Tabellen 2 und 3.

Die Tabelle 2 (Seite 10) vergleicht die Absterberate nach Bestrahlung mit einer Dosis von 10.000 r bei 4° C mit und ohne Cysteinzusatz. - Zunächst wird ersichtlich, daß 48 Stunden nach der Bestrahlung die bestrahlten Samenzellen gegenüber den unbestrahlten Kontrollen eine deutliche Schädigung erfahren haben und zwar 18 und 19 % unbewegliche Spermatozoen, während bei den unbestrahlten Kontrollen nur 9 % nachzuweisen waren. Setzt man nun zu der einen bestrahlten Versuchsreihe nach 48 Stunden Cystein hinzu (und zwar 2 mg/ccm), so zeigt sich gegenüber den nur bestrahlten Samenzellen in der Absterberate kein Unterschied.

Tabelle II

Anteil unbeweglicher Spermien (in %) nach Bestrahlung mit 10 000 r bei 4° C ohne und mit Cysteinbehandlung (nach Abzug der Spontanschädigungsrate der unbestrahlten Kontrollen zu Versuchsbeginn).

Dosis	Nach Abzug der Spontan-schädigungsrate vor Bestrahlung	48 Stunden nach Bestrahlung	53 Stunden nach Bestrahlung	78 Stunden nach Bestrahlung
Unbestrahlte Kontrollen	0	9	11	16
10 000 r	0	19	21	32
10 000 r nach 48 Stunden Cysteinzusatz 2 mg/ccm	0	18	19	35

Wiederholt man diesen Versuch und bringt das Sperma nach der Cysteingabe, also nach 48 Stunden auf 15° C, so erkennt man eine Strahlenschutzwirkung des Cystein, die 9 Stunden lang anhält. (Danach tritt, anscheinend durch toxische Abbauprodukte der entgegengesetzte Effekt ein).

In der Tabelle 3 (Seite 12) sind diese Ergebnisse zusammengefaßt. Es wurde mit 10.000 und 20.000 r bei 4° C bestrahlt. Dann wurden die Samenzellen 48 Stunden bei 4° C gehalten, um nun nach Cysteinzusatz (2 mg/ccm) auf eine Temperatur von 15° C gebracht zu werden.

Diese Ergebnisse lassen erkennen, daß zunächst wie in Tabelle 2 schon zu sehen, nach 48 Stunden die Absterberate gegenüber den unbestrahlten Kontrollen, bei Bestrahlung mit 20.000 r besonders deutlich zunimmt.

Wurde nun, bevor man auf 15° C die Temperatur erhöhte, Cystein hinzugesetzt, so nahm der Anteil der toten Samenzellen sehr viel langsamer zu als bei den nur mit 10.000 und 20.000 r bestrahlten Spermatozoen.

Bei 10.000 r waren es 58 %, bei 20.000 r 66 % tote Spermien, während bei Cysteingaben nur 31 % bzw. 40 % abgestorben waren. Diese deutliche Differenz von 27 % bei 10.000 r und 26 % bei 20.000 r konnte statistisch gesichert werden, indem man die Unterschiede zweier Häufigkeiten verglich.

Diese angeführten Versuchsreihen wurden unter den gleichen Bedingungen je 6 mal durchgeführt. Die Auszählung erfolgte in gleichen zeitlichen Intervallen. Die Abfallsdifferenzen in den einzelnen 6 Versuchen wurden gemittelt und die gemittelten Differenzen graphisch zur Darstellung gebracht. Jeder einzelne Versuch wurde statistisch berechnet; das Ergebnis konnte in allen 6 Versuchen eindeutig gesichert werden. Zur Ermittlung einer Differenz wurden ca. 250 Spermien ausgezählt, das heißt für jeden einzelnen graphisch zur Darstellung gebrachten Punkt kamen 1500 Spermien zur Auszählung.

Tabelle III

Anteil unbeweglicher Spermien (in %) nach Bestrahlung mit 10 000 r und 20 000 r Röntgenstrahlen bei + 4° C und Erwärmung auf + 15° C nach 48 Stunden ohne und mit Cysteinbehandlung (nach Abzug der Spontanschädigungsrate der unbestrahlten Kontrollen zu Versuchsbeginn).

D o s i s	Nach Abzug der Spontanschädigungsrate vor Bestrahlung	48 Stunden nach Bestrahlung Erwärmung von 4° auf 15°	51 Stunden nach Bestrahlung	54 Stunden nach Bestrahlung	57 Stunden nach Bestrahlung
Unbestrahlte Kontrollen	0	5	6	11	14
10 000 r	0	19	48	60	58
10 000 r nach 48 Stunden Cysteinzusatz 2 mg/ccm	0	18	20	18	31
20 000 r	0	31	51	62	66
20 000 r nach 48 Stunden Cysteinzusatz 2 mg/ccm	0	31	33	35	40

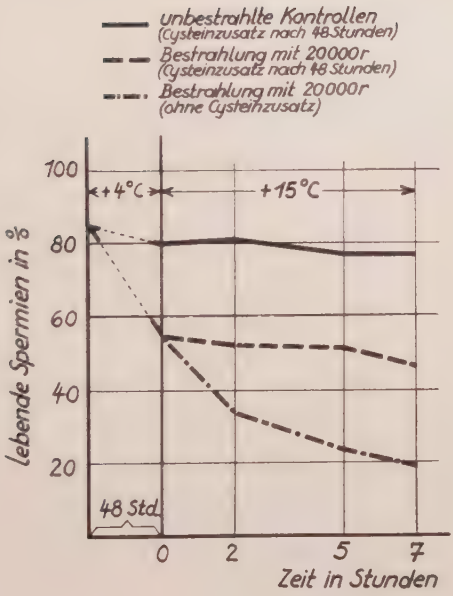

Abb. 1. Überlebensrate von Rinderspermien nach Bestrahlung in unterkühltem Zustand.

Die graphische Abb. 1 zeigt die Ergebnisse bei Bestrahlung mit 20.000 r.

Bei dieser graphischen Darstellung läßt sich feststellen, daß die Anzahl der lebenden Samenzellen nach der Bestrahlung innerhalb der ersten 48 Stunden, (während dieser Zeit wurde das Sperma bei 4° C gehalten) gegenüber der unbestrahlten Kontrolle stärker abnimmt. Wird die Temperatur auf 15° C erhöht, so geht der Abfall der nur bestrahlten Spermien schnell weiter, während bei der Versuchsreihe, zu der bei Temperaturerhöhung auf 15° C Cystein hinzugesetzt worden war, die Kurve im weiteren Verlauf fast der der unbestrahlten Kontrollen entspricht.

Aus diesen beschriebenen Ergebnissen geht die zu untersuchende nachträgliche Strahlenschutzwirkung des Cystein eindeutig hervor. Allerdings muß dabei die Bestrahlung in einem Zustand reduzierten Stoffwechsels erfolgen und die Schutzsubstanz vor dem Wiedereintritt normaler Stoffwechselverhältnisse hinzugesetzt worden sein.

Statistische Beurteilung und Sicherung der in Abb. 1 graphisch dargestellten Versuchsreihen!

Die statistische Fehlerberechnung wurde mit den K o l l e r '-schen (17) Tafeln vorgenommen und zwar, indem man die Unterschiede zweier Häufigkeiten verglich.

I.	Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
	G_1	$n_2 = 225$	223	99 % = p_2
	G_2	$n_1 = 100$	68	68 % = p_1
				31 %

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{225}{100} = 2{,}25$$

21,5% = größte erlaubte Zufallsdifferenz Grundzahl = 2,15, Stellenwert = 10 %
1,83 x 10% = 18,3% = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis. Die wirkliche Differenz 31% liegt über der endgültig als Zufallsergbnis maximal erlaubten Häufigkeitsdifferenz (18,3%).:
Die Werte sind statistisch gesichert!

II	Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
	G_1	$n_2 = 240$	215	89,5 % = p_2
	G_2	$n_1 = 125$	111	72,5 % = p_1
				17,0 %

19,0 % = größte erlaubte Zufallsdifferenz.
Grundzahl = 1,9, Stellenwert = 10 %

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{240}{125} = 1{,}92$$

1,66 x 10% = 16,6 % = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
17% liegt über 16,6% = statistisch gesichert.

III.

Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
G_1	$n_2 = 246$	205	82,5% = p_2
G_2	$n_1 = 221$	118	50,5% = p_1
			32,0%

14,5 % = größte erlaubte Zufallsdifferenz
Grundzahl = 1,45, Stellenwert = 10%

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{246}{221} = 1{,}1$$

1,55 x 10% = 15,5% = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
32,0 % liegt über 15,5% = statistisch gesichert.

IV.

Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
G_1	$n_2 = 235$	160	68% = p_2
G_2	$n_1 = 114$	51	44% = p_1
			24%

19,5 % = größte erlaubte Zufallsdifferenz.
Grundzahl = 1,95, Stellenwert = 10 %.

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{235}{114} = 2{,}06$$

1,68 x 10 % = 16,8 % = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
24% liegt über 16,8% = statistisch gesichert.

V. Versuch

	Beobachtungszahl	Tote	p %
G_1	$n_1 = 160$	119	73% = p_1
G_2	$n_2 = 165$	71	43% = p_2
			30%

16,5% = größte erlaubte Zufallsdifferenz.
Grundzahl=1,65, Stellenwert = 10 %

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{165}{160} = 1{,}03$$

1,64 x 10% = 16,4% = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
30% liegt über 16,4% = statistisch gesichert.

VI.	Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
	G_1	n_2 = 241	200	83,7% = p_2
	G_2	n_1 = 205	108	52,0% = p_1
				31,7%

14,9% = größte erlaubte Zufallsdifferenz.
Grundzahl = 1,65, Stellenwert = 10%

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{241}{205} = 1,17$$

1,43 x 10% = 14,3% = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
31,7 % liegt über 14,3% = statistisch gesichert.

Statistische Sicherung durch Addition der Beobachtungszahlen und der Anzahl der Toten von den statistischen Ausrechnungen I bis VI.

Versuch	n Beobachtungszahl	Tote	p %
G_1	n_2 = 1347	1122	83 % = p_2
G_2	n_1 = 930	527	56 % = p_1
			27 %

7,1% = größte erlaubte Zufallsdifferenz.
Grundzahl = 0,71, Stellenwert = 10 %

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{1347}{930} = 1,44$$

0,75 x 10% = 7,5 = maximal erlaubte Häufigkeitsdifferenz als Zufallsergebnis.
27 % liegt über 7,5 % = statistisch gesichert.

Diskussion

A. Eigenschaften der unbestrahlten Samenzellen

Bei der Abhandlung über das Material wurde schon auf einige Eigenschaften des Rindersamens eingegangen und zwar auf die Gesamtzahl der Spermatozoen in einem Ejakulat durchschnittlicher Größe, auf die Morphologie, die Beweglichkeit und auf die Verdünnung des Samens mit Spermasol, das bei der vorliegenden Arbeit als Verdünner verwandt wurde.

Bei den durchgeführten Versuchen mit Rindersamen waren jedoch noch andere Eigenarten des Materials zu berücksichtigen:

1. Der Stoffwechsel:

ist ein dissimilatorischer (fakultativ anaerober). In sauerstoffloser Umgebung können die Spermien glykolysieren. Den Zucker bezieht die Samenzelle zum geringen Teil aus eigenen Vorräten, den größeren Teil nimmt sie aus der sie umgebenden Flüssigkeit (dem Sekret der Geschlechtsdrüsen). Am günstigsten verläuft die Glykolyse bei einer Konzentration der Glukose von etwa 25% ab. Verlangsamt wird der Vorgang vor allem durch niedrigere Temperaturen und niedrige pH-Werte. So glykolysiert Rindersperma bei pH = 7,6 am lebhaftesten, bei pH = 6,0 nur sehr langsam.

Schädigend auf die Beweglichkeit wirken: die sich beim Stoffwechsel ansammelnde Milchsäure, die in vitro nicht abtransportiert werden kann, und der Sauerstoff (Mac Leod 1941 (25)). Günstig auf das Leben der Spermatozoen wirken Verdünnungsflüssigkeiten mit adaequatem Zuckerzusatz und die Herabsetzung des Stoffwechsels durch Temperaturerniedrigung auf einige Grade über 0.

2. Temperatur und pH-Wert

Wie schon oben erwähnt, hat die Temperatur auf die Lebensdauer der Samenzellen einen großen Einfluß. So sind die Spermien außerhalb des Organismus gegen höhere Temperaturen empfindlicher als gegen niedrige. Bei höheren Temperaturen tritt folgendes ein:

a) Rascher Verbrauch der Nahrungsvorratsstoffe durch höchste Aktivität der Spermien.

b) Rasche Zunahme des Keimwachstums.

c) Veränderungen der Eiweißkörper (wie z.B. Koagulation).

Bei niedrigen Temperaturen fehlen die eben genannten schädigenden Einflüsse. Das Sperma befindet sich bei Temperaturen, die eben über dem Nullpunkt liegen, in einem Kälteschlaf (Kälteanabiose), bei dem der Stoffwechsel der Samenzellen bis auf ein Minimum herabgesetzt ist, so daß der Nahrungsverbrauch sehr gering ist. Geht man mit der Temperatur noch weiter herunter, etwa bis auf 0° C oder unter den Nullpunkt, so hört die Glykolyse auf; jetzt wird durch Atmung (Oxydation) die notwendige Energie zur Erhaltung des Lebens geschaffen.

Der Kälteschlaf, also der Zustand, bei dem die Spermatozoen keine Bewegung mehr zeigen, aber trotzdem leben, ist nicht nur von der Temperatur abhängig, sondern unterliegt außerdem einem starken Einfluß des pH-Wertes (G ö t z e (26)). M i l o w a n o w (27) prüfte dahingehend Schafsperma, das mit Glukose-Phosphatpuffer bei verschiedenen pH-Werten verdünnt wurde. Bei einem pH von 7,6 hörte die Beweglichkeit der Spermien erst unter 15° C auf, bei einer Temperatur von 15 - 20° C stellte sich jedoch schon wieder volle Beweglichkeit ein. Bei saurer Reaktion (pH = 6,0) trat die volle Aktivität erst nach Erwärmung auf 40° C ein. Kälteträgheit,

die Vorstufe der Kälteanabiose, war hier noch bei 35° C, Kälteanabiose bei 30° C nachzuweisen. Man kann also sagen: der pH-Wert reguliert die Beweglichkeit der Samenzellen bei einer bestimmten Temperatur.

Das Rindersperma hat im frischen Zustand niedrige pH-Werte und ist elektrolytarm, so daß man es leicht in einen Kälteschlaf versetzen kann. Das Sperma darf jedoch nicht zu plötzlich abgekühlt werden, da sonst die Samenzellen sehr schnell absterben, was vermutlich dadurch zustande kommt, daß durch die plötzliche Einwirkung der Kälte der lipoide Sekretüberzug der Samenzelle zerstört wird. Es kommt durch plötzliche Abkühlung zu einem Temperaturschock (Kälteschock), der einen plötzlichen Tod, eine Verkürzung der Lebensdauer und eine Befruchtungsunfähigkeit bewirkt. Eine schnelle Abkühlung auf 20° C zeigt keinen Kälteschock, jedoch hat die weitere Abkühlung langsam zu erfolgen, am besten im Verlauf von 2-4 Stunden. Eine Kälteschädigung ist außerdem noch abhängig von der Dichte des Ejakulates, dem pH-Wert, dem Gehalt an Kalium-Ionen, an Milchsäure und kolloidalen Substanzen.

Daß niedrige Temperaturen auf die Lebensdauer der Spermien einen Einfluß haben, haben unter anderen auch P a v l o w (28) im Jahre 1927 nachgewiesen. Pavlov stellte zusätzlich fest, daß das Aufhören der Bewegung nicht immer den Tod bedeutet. Auch W a l t o n (25) erreichte durch Temperatursenkung eine Verlängerung der Lebensdauer bei Kaninchenspermien in vitro. R.G. B u n g e und J. von S h e r m a n (30) entwickelten im Jahre 1955 eine Schnellfriermethode, bei der 3 Monate lang 67 % der Spermien ohne Einbuße der Motilität und Morphologie am Leben blieben. Mit diesen unterkühlten Samen wurden sogar 3 Frauen erfolgreich befruchtet, ohne daß Komplikationen in der Entwicklung der Frucht auftraten.

Ganz überraschende Ergebnisse hatte J a h n e l (31) im Jahre 1938, die auf eine große Widerstandfähigkeit der Spermien gegen Kälte schließen läßt. Er unterkühlte im flüssigen Stickstoff menschliche Spermien auf -196° C und im flüssigen Helium sogar auf -296° C, etwa 3,7° C vom absoluten Nullpunkt entfernt, ohne daß die Samenzellen ihre Beweglichkeit während der Untersuchung

bei Körpertemperatur verloren hatten.

Wie schon erwähnt, hat der pH-Wert einen großen Einfluß auf die Lebensdauer der Samenzellen. Ein Absinken des pH-Wertes durch Absammlung von Milchsäure beeinträchtigt bei einem pH von 6,0 aufwärts die Motilität der Samenzellen und tötet diese bei einem pH von 5,5 bis 5,3 ab. Die Beweglichkeit des Rindersamens erhält sich am besten, wenn der pH langsam abnimmt. Je niedriger der pH bei der Gewinnung ist und je weniger er sich zum Alkalischen hinbewegt, umso besser bleibt die Bewegungsaktivität erhalten. Die Verdünnungsmittel müssen außer einem günstigen pH-Wert ein gutes Pufferungsvermögen gegen eine spontane Säuerung durch entstehende Milchsäure haben. Das pH-Optimum für die größte Beweglichkeit der Samenzellen liegt nach G ö t z e (32) bei 6,8 bis 7,0 pH, während M u s c h a t (33) bei pH 8,5 bis 9,5 ein Bewegungsoptimum beobachtete.

3) Osmotischer Druck

M i l o w a n o w (34) gibt für die Rinderspermien als Optimum eine 6,0 %ige Traubenzuckerlösung an.

4) Elektrolytische Vorgänge

Elektrolyte sind wichtig für die Reizauslösung. Reine Salze wirken auf die Lebensfähigkeit der Samenzellen ungünstig. Nach R e d e n s (35) schädigen sie die kolloidale Schutzhülle, ändern den Kolloidzustand (Aufquellung, Zerfall) und vermindern die elektrische Ladung. Daher sind Verdünnungsflüssigkeiten mit kleinen Elektrolytmengen am besten. Beim Rindersperma ist das Verhältnis von Elektrolyten zu Nichtelektrolyten wie 4:1.

5) Keimgehalt

Durch Abkühlung wird eine Vermehrung von Keimen so gut wie verhindert. Wichtig ist natürlich, wie auch G u g g e n b e r g e r (36) und F i n k (37) bei menschlichen Samen feststellten, eine möglichst keimfreie Gewinnung und Aufbewahrung des Sperma.

6) Keimhemmende Zusätze

Um möglichst jede Keimvermehrung auszuschließen, wurden keimhemmende Mittel hinzugesetzt. S e n e c a und I d e s (38) stellten fest, daß gewöhnliche Antibiotica gut zu verwenden waren, ohne daß ein toxischer Effekt auf die Vitalität menschlicher Spermatozoen auftrat. M y e r s und A l m q u i s t (39) hatten bei Untersuchungen mit Aureomycin, Penicillin und Streptomycin in bestimmten Konzentrationen ähnliche Erfolge. Aureomycin wirkte dabei am günstigsten auf die Hemmung des Bakterienwachstums (siehe hierzu 40), 41)).

7) Verdünnung

Außer dem schon erwähnten Spermasol werden bei Rindersperma meist noch folgende Verdünnungen verwandt: (siehe hierzu 42), 43), 44))

a) Glukose-Phosphat-Lösung,
b) Glukose-Sulfat-Lösung,
c) Glukose-Tartrat-Lösung,

mit oder ohne Eidotterzusatz.

B) Bestrahlung der isolierten Keimzelle

B o h n (1) war im Jahre 1903 der erste, der den Einfluß von Radiumemanation auf Keimzellen prüfte. Er bestrahlte Seeigelspermien und stellte fest, daß sich die Eier nach der Besamung parthenogenetisch entwickelten. - P e r t h e s (2) (1904) prüfte die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf die Geschlechtszellen von Pferdespulwürmern (ascaris megalocephalus) Nach der Befruchtung traten abnorme Furchungsstadien auf. - Im Jahre 1911/13 bestrahlte H e r t w i g (3) Eier und Sperma vom Laubfrosch (rana viridis). Je nach der Radiumeinwirkung beobachtete er nach der Befruchtung abnorme Entwicklungen, Absterben oder auch parthenogenetische Entwicklungen. (Die pathenogenetische Entwicklung schloß er aus Bastardi-

mit bestrahltem Sperma einer anderen Art.) Die jungen Frösche besaßen nur weibliche Eigenschaften, sie waren also ohne Einwirkung des männlichen Kerns entwickelt. Dieser Effekt, der nach H e r t w i g benannt wurde, brachte den ersten Einblick in die Frage, ob die Strahlenschädigung am Kern oder am Plasma angreift.

C) Bestrahlung des samenbildenden Hodengewebes

Über die Bestrahlung des samenbildenden Hodengewebes sind von vielen Forschern, wie zum Beispiel von A l b e r s - S c h ö n b e r g (4) (1903), H a l b e r s t a e d t e r (5) (1905), M a r k o v i t s (6) (1923), O s l u n d (7) (1926) und E s c h e n b r e n n e r - M u l l e r (8) (1950) zahlreiche Untersuchungen angestellt worden, so daß man über den Effekt der Strahlung auf Hodengewebe sehr gut orientiert ist. Die Strahlenwirkung ist folgende: Die Spermatozoen sind sehr resistent gegen Röntgenstrahlen, während die Vorstufen, die Spermatogonien, Spermatocyten und Spermatiden sich als sehr viel strahlenempfindlicher erweisen. Am meisten werden die Spermatogonien geschädigt, während die Strahlenempfindlichkeit bei fortschreitender Spermiohistogenese immer mehr abnimmt. Es genügen also schon kleine Röntgendosen, um eine Röntgenkastration zu erreichen, da dadurch die Spermatogonien geschädigt werden und so eine Azoospermie erreicht wird. Bei drei Hauterythemdosen *) verschwinden alle Zellen im Hoden bis auf die Sertolischen Stützzellen, die erst bei 8 HED absterben. Eine Regeneration des Hodengewebes ist möglich, sie geht von indifferenten Zellen, also Mesenchymzellen aus.

*) 1 HED = 600 r, eine 1920 von S e i t z und W i n t z eingeführte biologische Dosiseinheit, die etwa einer Dosis von 600 r entspricht.

D) Bestrahlung des isolierten Sperma

1.) Befruchtungsversuche mit in vitro bestrahltem Sperma

In erster Linie wurde mit dem isolierten, bestrahlten Samen Befruchtungsversuche, wie zum Beispiel von A s d e l l - S t a f f o r d (9) (1931), M a r u t a (10) (1933), A m o r o s o (11) (1943) und K o s i n (12) (1945) unternommen. Man beobachtete die Fruchtbarkeit, die entsprechend der Bestrahlungsdauer herabgesetzt wird, die Furchung, die sich teilweise verzögerte, und Veränderungen und Abnormitäten an jungen Tieren, die jedoch nicht eindeutig festgestellt werden konnten. (Asdell bestrahlte Kaninchensperma bis zu 11 HED bei Spannungen zwischen 100 und 200 kV, mit dem Befruchtet wurde; die jungen Tiere wurden anscheinend gesund zur Welt gebracht.

2.) Prüfung der Beweglichkeit der Samenzelle nach der Bestrahlung

Hierüber wurden bisher nicht so zahlreiche Untersuchungen angestellt. B a r d e e n (13) (1907 hatte bei Amphibiensperma einen Verlust der Beweglichkeit der Spermien nach der Bestrahlung festgestellt. Nachuntersuchungen, die von A s d e l l - S t a f f o r d, M a r u t a, F u k e (14) und H u g h (15) vorgenommen wurden, konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen. Bei allen Untersuchungen eben genannter Autoren fehlt eine genaue Angabe der Bestrahlungsdosen und die Abhängigkeit der Beweglichkeit von der Röntgendosis. Erst im Jahre 1955 untersuchte G e r b e r (16) mit genauer Angabe der Röntgendosen die Beweglichkeit menschlicher Samenzellen nach Einwirkung langwelliger Röntgenstrahlen, indem er mit einem Dermopangerät (Siemens-Reiniger)

16 Ejakulate mit über 80 % beweglicher Spermien bestrahlte. Er hatte folgende Ergebnisse:

a) bei Bestrahlung mit 10.000 r nimmt die Beweglichkeit um 10 % ab, bei 50.000 r um 50 % ab, wenn die Werte unmittelbar vor und nach der Bestrahlung verglichen werden.

b) Bestrahlung mit 20 r, 100 r und 1.000 r stimulieren die Beweglichkeit der Samenzellen nicht.

c) Die unmittelbar nach der Bestrahlung noch beweglichen Samenzellen sind vorgeschädigt, denn ihre Beweglichkeit nimmt bei weiterer Bestrahlung schneller ab als die der unbehandelten Kontrollen.

d) Wird die Röntgendosis über die fünffache Zeit fraktioniert verabfolgt, so ist die Strahlenschädigung geringer, da bei Fraktionierung keine Kumulation der Strahlenschäden auftritt.

e) Bestrahlte man das Medium (es wurde eine modifizierte Bakerlösung verwandt) mit 1.000.000 r und gab nachträglich die Spermien hinzu, so lebten nach 1/2 Stunde nur noch 10 % der Spermatozoen.

Leider fehlen bei der Arbeit von G e r b e r genaue Angaben über die Temperatur, (die für die Beweglichkeit der Samenzellen bei der Ejakulationsuntersuchung eine große Rolle spielt) bei der die Bestrahlung und Auswertung vorgenommen wurde und über den pH-Wert des Sperma, 2 Faktoren, die für die Beweglichkeit der Samenzellen von großer Bedeutung sind, da der pH-Wert die Beweglichkeit der Spermien bei einer bestimmten Temperatur reguliert.

E) Die Strahlenschutzwirkung SH-haltiger Substanzen

In langjährigen Untersuchungen wurde von vielen Wissenschaftlern dem Problem des Reaktionsvorganges der SH-haltigen Stoffe wie Cystein, Cysteamin und Glutathion nachgegangen. Man stellte auf Grund der verschiedenartigsten Nachforschungen eine Anzahl von Theorien über den biologischen Strahlenschutz dieser Substanzen auf:

B a r r o n und D a l e (48) sind der Meinung, daß durch Applikation von Thiolen hauptsächlich nur diese zusätzlich zugeführten Stoffe durch Strahlung inaktiviert würden, während die SH-Gruppen der lebensnotwendigen Enzyme, an den sonst die biologische Reaktion in Form einer Oxydation (Bildung von inaktiven S-S-Gruppen) stattfinden würde, geschont werden. Außerdem besitzen die SH-haltigen Substanzen ein ausgezeichnetes Reduktionsvermögen, so daß sie vielleicht noch die Fähigkeit besitzen, die in die Disulfidform übergeführten Enzyme wieder in ihre SH-Form zurückzuführen und damit zu reaktivieren.

Andere Forscher sind zusätzlich der Meinung, daß die Strahlenschutzwirkung nicht allein von der SH-Gruppe abhängig sei, sondern ebenso die bei den Körpern der Cysteinreihe vorhandene NH_2-Gruppe. Diese Bedeutung der NH_2-Gruppe konnte B a c q in seinen Versuchen nachweisen. Aber auch die Stellung dieser beiden Gruppen zueinander scheint nicht ohne Bedeutung zu sein. Entscheidend für die Strahlenschutzwirkung ist außerdem die Konfiguration des Moleküls (Vergleich von Isocystein (sensibilisierend) und Homocystein (schützend)), und nicht so sehr das Fehlen oder Vorhandensein einer einzigen aktiven Gruppe. Damit kann man also sagen, daß dem Cystein und ebenso einer Reihe seiner nächsten Verwandten der Strahlenschutzeffekt als spezifische Eigenschaft dieser SH-Gruppen tragenden Körper zukommt.

Weiterhin wurden noch andere Hypothesen ins Feld geführt:

So glaubt man, daß die aus dem Wasser durch ionisierende Strahlen freiwerdenden Radikale (OH, O_2H, H_2O_2) durch die Reduktionskraft der Thiole weggefangen werden und somit eine Oxydierung der Protein (Enzym)- SH-Gruppen verhindert wird. Ebenso können sie den Sauerstoffpartialdruck im Gewebe vermindern und dadurch den Strahleneffekt abschwächen.

E l d j a r n und P i h l (49) weisen darauf hin, daß den sogenannten "gemischten" Disulfiden eine größere Bedeutung zukommt. Sie glauben, daß lösliche Thiole mit Enzymdisulfidgruppen und umgekehrt folgendermaßen reagieren können:

R-SH+Enzym-S-S-Enzym = Enzym-SH+Enzym-S-S-R
R-S-S-R+Enzym-SH = Enzym -S-S-R+R-S-SH

Als gemischte Disulfide (Enzym-S-S-R) seien die Enzyme dadurch gegen die Strahleneinflüsse geschützt und werden nicht inaktiviert.

Alle diese Theorien zeigen, daß viele Faktoren bei der Schutzwirkung des Cysteins und seiner nahen Verwandten eine Rolle spielen. Welche Hypothese nun die stichhaltigste ist, möge im Augenblick nicht zur Debatte stehen, viel wichtiger erscheint es, im Cystein und seinen Abkömmlingen Substanzen gefunden zu haben, die eindeutig die lebende Zelle vor der Schädigung durch ionisierende Strahlen zu bewahren vermögen.

Zusammenfassung

Rinderspermien werden im unterkühlten Zustand Röntgenstrahlendosen bis zu 20.000 r ausgesetzt, und erst einige Stunden später erwärmt.

Die durch die Strahleneinwirkung hervorgerufene Schädigung zeigt sich in einer Hemmung der Beweglichkeit der Spermie. Wurde jedoch der Zellsuspension im Augenblick der Erwärmung Cystein hinzugesetzt, so ließ sich ein eindeutiger Schutzeffekt nachweisen, obwohl dieser Schutzstoff erst nach der Bestrahlung zur Anwendung kam.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Bohn, C., von — Soc.biol., Paris, 136, 1012 (1903)
2. Perthes, G. — Dtsch.Med.Wschrft., 30, 632 und 668 (1904)
3. Hertwig, G. — Strahlentherapie, 11, 821 (1923)
4. Albers-Schönberg — Münchener Med.Wschrft., 1859 (1903)
5. Halberstädter, L. — Berl. Klin. Wschrft. (1905)
6. Markovits, E. — Zur röntgenologisch. Kastration beim Manne, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 9, S. 526, 1924
7. Oslund, R.M. — Germinal epithelium in x-rayed testes of rats, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 22, S. 157, 1927
8. Eschenbrenner, A.B., Muller, E., Arch.Path. 30, 376, (1950)
9. Asdell, S.A. — Stafford L.W., The effect of high voltage Roentgen radiation (200 KV) upon the fertility and mobility of the sperm of the rabbit, Ersch.: Amer.I. Roentgenol. 25, S. 81-84 (1931)
10. Maruta, Syneyosi — Biolog. Wirkung der Roentgenstrahlen (III Mitt) Befruchtungsversuch mit bestrahlten Spermatozoen, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 45, S. 542, 1933
11. Amoroso, E.C. — Nature, 152, 244 (1943)
12. Kosin — Phys. Zool. 17, 289 (1944)
13. Bardeen, C.H. — J. Exp. Zool. 4, 1 (1907)
14. Fuke, R. — Japan J., Obst. Gynac. 13, 467 (1930)
15. Rugh, E. — Proc. Amer. Phil. Goc. 81, 447 (1933)
16. Gerber, G. — Beweglichkeit und Morphologie menschlicher Spermien nach Einwirkung langwelliger Roentgenstrahlen, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 93, Heft 6/7, 1956
17. Koller, S. — Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen (1943)

18. Patt, H.M. Factors In The Radiosensivity Of Mammalian Cells
Annals New York Academy of Sciences, 59, S. 649 - 664, 1955

19. Künkel, H.A., Höhne, G., Maass, H., Der Einfluß von Cystein und Winterschlaf auf die Überlebensrate röntgenbestrahlter Siebenschläfer (glis glis)
Z. Naturforsch. 12b (1957) : 144;
in: "Advances in Radiobiology", London 1957

20. Krahe, M., Künkel, H.A., Schmermund, H.-G., Über die Beeinflußbarkeit der biologischen Strahlenwirkung durch Applikation von Schutzstoffen nach der Bestrahlung, Strahlentherapie, Bd. 102, Heft 2, 1957

21. Götze, R. Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere, Hannover 1949

22. Reed, C.I, Reed R.P., Comparation study of human and bovine sperm by electron mikroskopy,
Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 75, S. 91, 1950/1951

23. Redens zitiert nach Götze, R.

24. Adolphi zitiert nach Moeller, N., van Demark, N.L.,
Invitro speeds of Bovine Spermatozoen,
Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 95, 1956

25. Mac Leod, J. The metabolism of human spermatozoa,
Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 67, S. 656, 1941

26. Götze, R. a.a.O.

27. Milowanow zitiert nach Götze, R.

28. Pavlov, G. Einfluß niedriger Temperaturen auf die Spermatozoen, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 27, S. 444, 1928

29. Walton, A. The effect of temperature on the survival in vitro of rabbit spermatozoen obtained from the vas deferens,
Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 35, S. 331, 1931

30. Bunge, R.G., Sherman, J., Frozen human semen, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 90, Heft 6/7, 1955

31. Jahnel, F., Über die Widerstandsfähigkeit von menschlichen Spermatozoen gegenüber starker Kälte, Wiederauftreten der Beweglichkeit nach Abkühlung auf -196°C (flüssiger N) und -296° C, etwa 3,7° C vom absoluten Nullpunkt entfernt (flüssiges He), Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 61, S. 711, 1939

32. Götze, R. a.a.O.

33. Muschat, M. The effect of variation of hydrogen-ion-concentration on the mobility of human spermatozoa, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 22, S. 589, 1927

34. Milowanow zitiert nach Götze, R.

35. Redens zitiert nach Götze, R.

36. Guggenberger, J. Untersuchungen über die Lebensfähigkeit der menschlichen Spermien in vitro, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 7, S. 239, 1923

37. Fink, A. Über die Lebensfähigkeit menschlicher Spermatozoen in vitro, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 86, 1953/54

38. Seneca, H. Ides, D. The effect of antibiotics on human spermatozoa, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 89, Heft 1/2, 1954

39. Myers, R.M., Almquist, J.O, A comparison of the effects of aureomycin, penicillin and streptomycin upon spermatozoan livability and control of bacterial in bovine semen, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 79, S. 412, 1952

40. Easterbrooks, H.L. Antibiotic treatment of diluted bullsemen used in artificial insemination, Zentr.Bl.f Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 81, S. 390, 1952

41. Gray, I. The effect of dilution on the activity of spermatozoa, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 87, S. 288, 1954

42. Ullner, W. Vergleichende Untersuchungen von Spermaverdünnern, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 87, S. 288, 1954

43. Moench, G.L. Evalution of the mobility of spermatozoa, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 35, S. 330, 1931

44. Mettenleiter, M. Sperma und künstliche Befruchtung bei Mensch und Tier, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 19, S. 830, 1926

45. Wolf, Ch.G.L. The survival of mobility in mammalian spermatozoa, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 4, S.236, 1922

46. Fossel, M. Spermauntersuchungen und Phasenkontrastverfahren, Zentralblatt für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd. 81, S. 112, 1952

47. Götze, R. a.a.O.

48. Barron und Dale, Langendorff, "Problem des Reaktionsvorganges bei der biologischen Strahleneinwirkung", Strahlentheraphie, Bd. 88

49. Pihl, A., und Eldjarn, L.: Advanc. radiobiol. Proc. 5th int.conf. radiobiol., p 147 (1956); Eldjarn, L. und Pihl, A.: I. biol. Chem. 223: 341 (1956); 225: 449 (1957) Pihl, A., und Eldjarn, L. und Bremer, J.: J. biol.chem. 227:339 (1957)

Für die Überlassung des Themas möchte ich mich herzlichst bei Herrn Prof. Dr. G. Schubert bedanken.

Gleichzeitig möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Schmermund und Herrn Doz. Dr. H.A. Künkel für die Unterstützung bei den experimentellen Untersuchungen danken.

L e b e n s l a u f

Ich, Walter Peter Eduard MEYERHOFF wurde am 21. Dez. 1933 in Hamburg als Sohn des prakt. Arztes Dr. med. Eduard Meyerhoff und seiner Frau Elisabeth, geb. Döring, geboren.

Ostern 1940 wurde ich eingeschult. Im Herbst 1944 bestand ich die Aufnahmeprüfung für die höhere Schule und besuchte bis zur Ablegung der Reifeprüfung im Februar 1953 die Gelehrtenschule des Johanneums zu Hamburg.

Ich ließ mich für das Sommersemester 1953 an der Universität Hamburg für die medizinische Fakultät immatrikulieren. Im Frühjahr 1956 bestand ich das Physikum. Auch die klinischen Semester studierte ich an der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf und bestand am 15.7.1959 mein medizinisches Staatsexamen.

Vom 15.8. - 31.12.1959 war ich als Medizinalassistent an der Orthopädischen Klinik des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf, unter Leitung von Herrn Oberarzt Doz. Dr. Harff, tätig. Meine innere Zeit als Medizinalassistent absolvierte ich vom 1.1.60 - 30.6.60 an der I. Med.Abt. des Allgemeinen Krankenhauses Eilbek in Hamburg, unter Leitung von Herrn Dr. med. habil. P. Laurentius. Vom 1.7.60 - 30.4.61 war ich als Medizinalassistent an der Chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Kaltenkirchen/Holst., unter Leitung von Herrn Chefarzt Dr. med. F. Stingl, beschäftigt. Seit dem 1.5.1961 bin ich nunmehr als Medizinalassistent zur Ableistung meiner geburtsh.-gynäkologischen Zeit an der Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf,unter Leitung von Herrn Prof. Dr. med. G. Schubert, tätig.